

19



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



11 Veröffentlichungsnummer: **0 464 531 A2**

12

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

21 Anmeldenummer: **91110302.6**

51 Int. Cl.⁵: **C14C 1/08**

22 Anmeldetag: **22.06.91**

30 Priorität: **23.06.90 DE 4020110**

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:
08.01.92 Patentblatt 92/02

84 Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB IT LI NL SE

71 Anmelder: **RÖHM GMBH**
Kirschenallee
W-6100 Darmstadt(DE)

72 Erfinder: **Christner, Jürgen, Dr.**
Tannenstrasse 7B
W-6104 Seeheim-Jugendheim(DE)
Erfinder: **Pfleiderer, Ernst**
Grimmelshausenstrasse 3
W-6100 Darmstadt-Artheilgen(DE)
Erfinder: **Taeger, Tilman, Dr.**
Breslauer Strasse 33
W-6104 Seeheim-Jugenheim(DE)

54 **Enzymatische Beizpräparate.**

57 Die Erfindung betrifft enzymatische Beizpräparate für die Kohlensäure-Entkalkung unter Verwendung von Proteasen, wobei die Beizpräparate

A) alkalische Bakterienprotease mit einem pH-Optimum zwischen 9 und 11 in Anteilen von 10 - 20 Gew.-% bezogen auf die Gesamtheit der Proteasen P

B) Pankreasprotease mit einem pH-Optimum zwischen 7 und 9, in Anteilen von 40 - 70 Gew.-% bezogen auf die Gesamtheit der Proteasen P und

C) Pilzprotease oder Bakterienprotease mit pH-Optimum im pH-Bereich 5 bis 7 in Anteilen von 20 bis 40 Gew.-% bezogen auf die Gesamtheit der Proteasen P,

enthalten, mit der Maßgabe, daß die proteolytische Aktivität der

A') alkalischen Bakterienproteasen bei pH 10, der

B') pankreatischen Enzyme bei pH 8 und

C') der sauren Pilz- oder Bakterienprotease bei pH 6,5

gleich stark eingestellt ist.

EP 0 464 531 A2

Stand der Technik

Die herkömmliche Ledertechnologie besteht aus einer Abfolge von Einzelschritten, deren erster Abschnitt die sogenannte Wasserwerkstatt darstellt, gefolgt von der eigentlichen Gerbung und der Zurichtung der Leder (vgl. F. Stather, Gerbereichemie und Gerbereitechnologie, Akademie-Verlag, Berlin 1967). Im Rahmen der Wasserwerkstatt werden die Häute und Felle gewöhnlich einem Äscherverfahren unterworfen, dem sich heute üblicherweise die sogenannte Entkalkung und die Beize anschließen. Der Äscher stellt in der Regel eine Behandlung im alkalischen Bereich (pH 12 - 14) dar, durchgeführt entweder als rein alkalischer "Hydroxylächer" unter Verwendung von Calciumhydroxid und Natriumhydroxid oder in der überwiegenden Zahl der Fälle als reduzierend wirkender "Sulfidächer". Sulfidächer enthalten anorganisches Sulfid gewöhnlich in Form von S^{2-} - oder SH^{-} -Ionen.

Vor der eigentlichen Gerbung sollte die Schwellung der Häute, die durch die Alkalieinwirkung im Äscher eintritt, wieder rückgängig gemacht werden, um eine ausreichende Gerbung zu gewährleisten. Bei der sogenannten Entkalkung wird der pH-Wert der Blößen von ca. 13 auf ca. 8 herabgesetzt. Bei der Anwendung von starken Säuren ist indessen Vorsicht geboten, da ein auch nur zeitweiliger Säureüberschuß eine Säureschwellung in den äußeren Hautschichten, insbesondere in der empfindlichen Narbenschicht hervorrufen kann. (vgl. H.J. Rehm und G. Reed Ed., Biotechnology Vol. 6b, S. 736 - 739, VCH 1988). Aus diesem Grund wurde die Anwendung saurer Salze (d.h. von Salzen schwacher Basen mit starken Säuren) wie z.B. der Ammoniumsalze der Schwefelsäure oder der Salzsäure oder die Anwendung organischer Säuren empfohlen. Allerdings stoßen diese Verfahren auf oekologische Bedenken.

Aufgabe und Lösung

Anstelle der Verwendung von Ammoniumsalzen, welche in der Abwasserklärung zu einer starken Sauerstoffzehrung führen und daher als Abwassergifte wirken, zeigt in Wasser gelöstes Kohlendioxid (vgl. F. Stather, Gerbereichemie und Gerbereitechnologie, S. 214, Akademie Verlag Berlin 1967; E.E. Ochs J. Am. Leather Assoc. 48, 105 (1953); US-A 2 147 542) keine umweltschädigende Wirkung. Durch die hohe Löslichkeit von CO_2 erreicht man frühzeitig eine gesättigte CO_2 -Lösung, welche über intermediär gebildete Kohlensäure zur Neutralisation des in der Haut befindlichen Alkalis befähigt ist.

Es hat sich nun in der Praxis gezeigt, daß die Durchentkalkung am schnellsten verläuft, wenn die CO_2 -Eindosierung kontinuierlich erfolgt.

Zu Beginn der CO_2 -Entkalkung liegt der pH-Wert bei 11,5 - 12,5 und sinkt bereits nach 15 - 25 Minuten bis auf 6,5 ab. Die nachfolgende Beize wird in der Regel mittels proteolytischer Enzyme durchgeführt, beispielsweise mit Proteasen (vgl. H.J. Rehm und G. Reed, loc.cit., F. Stather loc.cit.). Es ist bekannt, daß Beizmittel auf Basis pankreatischer Proteasen ein Aktivitätsoptimum bei pH 7,5

- 8,5 besitzen. Bei pH-Werten um 6,5 liegen üblicherweise nur noch ca. 60
- 80 % der Aktivität vor, so daß die Beizaktivität nicht in befriedigendem Umfang ausgenutzt wird.

Um diesen Nachteil zu umgehen, wird in der Patentliteratur (PCT/SE88/00313) vorgeschlagen, die CO_2 -Dosierung so vorzunehmen, daß der pH-Wert nicht unter das Optimum der Beizaktivität abfällt (pH = 7,5) bzw. das Beizmittel erst dann zuzusetzen, wenn die Entkalkung mit CO_2 abgeschlossen ist und der pH-Wert so weit angestiegen ist, daß dieser in das pH-Optimum des Beizmittels fällt. Bei dieser Verfahrensweise muß aber mit einer verringerten Druckkalkungskinetik gerechnet werden. Es bestand daher die Aufgabe, nach Lösungen zu suchen, die bei Anwendung der CO_2 -Entkalkung eine bessere Ausnutzung der Beizaktivität in der Beize ermöglichen.

Die vorliegende Aufgabe kann gelöst werden, indem man zur Durchführung der Beize ein enzymatisches Beizpräparat verwendet, welches im gesamten pH-Bereich der CO_2 -Entkalkung ein ausgeglichenes Aktivitätsspektrum besitzt bei gleichzeitigem Aktivitätsoptimum bei pH 6 - 8, speziell bei pH 6,5 - 7,5.

Die vorliegende Erfindung betrifft somit ein enzymatisches Beizpräparat mit einem Gehalt an beizwirksamen Proteasen, wobei das enzymatische Beizpräparat als enzymatisch wirksame Komponenten

A) alkalische Bakterienprotease mit einem pH-Optimum zwischen 9 und 11, speziell 9,5 und 10,5 in Anteilen von 10 - 20 Gew.-% bezogen auf die Gesamtheit der Proteasen P

B) Pankreasprotease mit einem pH-Optimum zwischen pH 7 und 9 in Anteilen von 40 bis 70 Gew.-% bezogen auf die Gesamtheit der Proteasen P und

C) Pilzprotease oder Bakterienprotease mit ausgeprägtem pH-Aktivitätsoptimum im pH-Bereich 5 bis 7 in Anteilen von 20 bis 40 Gew.-% bezogen auf die Gesamtheit der Proteasen P mit der Maßgabe, daß die

A') alkalischen Bakterienproteasen bei pH 10, der

B') pankreatischen Enzyme bei pH 8 und der C') sauren Pilz- oder Bakterienprotease bei pH 6,5 bezüglich ihrer proteolytischen Aktivität gleich stark eingestellt sind,

und gegebenenfalls daneben an sich bekannte Stabilisatoren und Hilfsmittel enthält.

Die Summe der Proteasen A) + B) + C) sei stets zu 100 Gew.-% angenommen.

Die Proteasen P

Die Klassifizierung proteolytisch wirksamer Enzyme (E.C.3.4) kann unter verschiedenen Gesichtspunkten erfolgen, z.B. nach dem Ursprung (pflanzlich/tierisch/mikrobiologisch), nach dem Angriffsort (Exo-versus-Endo-Enzyme), anhand der "Active Site" der Proteasen ("Serin-Proteasen") und nach dem pH-Optimum der proteolytischen Aktivität. (Vgl. Kirk-Othmer, 3rd Ed. Vol.9, 199 - 202, J. Wiley 1980; K. Anstrup in B. Spencer, Industrial Aspects of Biochemistry, Vol. 30, pp. 23 - 46, North Holland 1974; H.J. Rehm & G. Reed Ed. Biotechnology Vol. 6b, 729 - 743, VCH 1988; Ullmann's Encyclopaedia of Industrial Chemistry 5th Ed. Vol. A9, pp 295 - 397 VCH 1987; Ullmanns Encyclopädie der Techn. Chemie. 4. Auflage, Bd. 10, 475 -561, Verlag Chemie 1975).

Zu A)

Die erfindungsgemäß einzusetzenden **alkalischen** Bakterien-Proteasen [E.C.3.4.21.14; vgl. auch L. Keay in Process Biochemistry 17 - 21 (1971)] gehören meist dem Serin-Typ an.

Vorzugsweise handelt es sich um die sogenannten Subtilisine, die von verschiedenen Bacillus sp. produziert werden, insbesondere von B.subtilis, B.licheniformis, B.pumilis, B.alkalophilus, B.firmus, B.megaterium, B.cereus, B.amylosacchariticus. Die alkalischen Proteasen, deren Struktur z.T. analysiert wurde, haben in der Regel Molmassen im Bereich 26 000 - 34 000. Sie sind überwiegend im pH-Bereich 5 - 10 recht stabil, solange im Temperaturbereich unterhalb 35 Grad C gearbeitet wird. Bei Temperaturen von ca. 65 Grad C und darüber geht indessen die Aktivität rasch verloren. Die Subtilisine sind aktiver gegenüber Casein als gegen Haemoglobin oder Rinder-Serumalbumin.

Technische Präparate Zeigen oft Aktivitäten zwischen 1 und 6 ANSON-Einheiten pro g (während die Aktivität von kristallinem Subtilisin bei 25 - 30 ANSON-Einheiten/g liegt).

Zu B)

Die Pankreasproteasen wie sie technisch zur Anwendung kommen, stellen Gemische aus Trypsin, Chymotrypsin und verschiedenen Peptidasen dar. Sie können als Begleitenzyme Amylase und Lipase enthalten. Gewonnen werden sie gewöhnlich durch Salzfällung von frischem Pankreasdrüsen-Preßsaft bzw. aus Rückständen

der Insulingewinnung. Gegenüber den Substraten Casein, Haemoglobin und Gelatine liegt der optimale pH-Wert der Wirkung bei 9,0 (30 - 40 Grad C), wobei zu beachten ist, daß die Proteasen im optimalen Wirkungsbereich mit steigender Temperatur inaktiviert werden.

Zu C)

Die Pilzproteinasen bzw. Bakterienproteasen mit ausgeprägtem Aktivitätsoptimum im Bereich zwischen pH 5 und 7 stammen vorzugsweise aus Aspergillus sp., Streptomyces sp., Microsporum sp.. Besonders genannt seien A.sojae, A.niger bzw. oryzae, A.parasiticus, S.griseus, S.naraensis, Piricularia oryzae u.ä. bzw. aus Bacillus-Arten wie B.subtilis, B. thermoproteolyticus, B. cereus, B. megaterium, B.polymixa. Das Molgewicht dieser, im allgemeinen als nicht sehr stabil geltenden Proteasen liegt gewöhnlich im Bereich 35 000 bis 45 000. Ausweislich der Literatur, verlangt die Anwendung von Enzymen dieses Typs

- strikte Einhaltung des tolerierten pH-Bereichs
- Anwesenheit von Metallionen (Ca^{+2} bzw. Zn^{+2})
- Unterdrückung der Aktivität evtl. vorhandener alkalischer Proteasen (wegen deren Tendenz zur gegenseitigen proteolytischen Spaltung).

Die proteolytische Wirksamkeit von Enzymen wird gebräuchlicherweise nach der Anson-Haemoglobin-Methode (M.L. Anson J. Gen. Physiol. 22, 79 (1939) bzw. nach der Löhlein-Volhard-Methode (die Löhlein-Volhard'sche Methode zur Bestimmung der proteolytischen Aktivität. Gerbereichem. Taschenbuch, Dresden-Leipzig, 1955) als "LVE" (Löhlein-Volhard-Einheit) bestimmt.

Unter einer Löhlein-Volhard-Einheit ist diejenige Enzymmenge zu verstehen, die unter den spezifischen Bedingungen der Methode 1,725 mg Casein verdaut. Weiter werden im folgenden für die Aktivitätsbestimmung der im sauren Bereich wirksamen Enzyme Einheiten verwendet, die aus der Anson-Methode abgeleitet sind. Diese werden als "Proteinase-Units (Haemoglobin)" U_{Hb} bezeichnet. Eine U_{Hb} entspricht der Enzymmenge, welche die Freisetzung von trichloressigsäure-löslichen Bruchstücken aus Haemoglobin äquivalent 1 μMol Tyrosin pro Minute bei 37 Grad C (gemessen bei 280 nm) katalysiert. ($1 \text{ m}U_{\text{Hb}} = 10^{-3} U_{\text{Hb}}$).

Durchführung der Erfindung

Die Anwendung der erfindungsgemäßen Beizpräparate geht zweckmäßig von folgenden Bemessungsregeln aus:

Gesamtgehalt der Proteasepräparationen A) - C) 0,1 bis 2 Gew.-% bezogen auf das Hautmaterial. Die Proteasepräparationen setzen sich vorzugswei-

se wie folgt zusammen:

A) alkalische Bakterienproteasen mit einer Enzymaktivität von 2 000 - 50 000 U_{HB} vorzugsweise mit 10 000 - 30 000 U_{HB} gemessen bei pH 10

B) Pankreasproteinasen mit einer Enzymaktivität von 2 000 - 60 000, vorzugsweise mit 5 000 - 15 000 U_{HB} gemessen bei pH 8

C) Pilzprotease oder saure Bakterienproteasen mit einer Enzymaktivität von 5 000 - 100 000 U_{HB}, vorzugsweise mit 10 000 - 20 000 U_{HB} gemessen bei pH 6,5.

Die erfindungsgemäß einzusetzenden enzymatischen Beizpräparate können in Form von festen Mischungen oder vorzugsweise als Präparate in flüssigem Medium (DE-A 39 04 465; unveröffentlichte deutsche Patentanmeldung P 39 27 286.9) vorliegen.

Die Beizpräparate enthalten neben den Proteasen A) - C) noch zweckmäßigerweise an sich bekannte Zusätze wie Stabilisatoren, Stellmittel u.ä.. Als Stabilisatoren kommen z.B. Calciumsalze infrage. Als Stellmittel empfehlen sich Alkalichloride, -sulfate oder -bicarbonate.

Zur Beschleunigung der Durchentkalkung können in geringen Mengen (< 0,5 Gew.-% bezogen auf das Hautmaterial) Ammoniumsalze wie Ammonsulfat oder -chlorid eingesetzt werden.

Der Anteil der Salze an den Beizmitteln liegt in der Regel bei < 90 Gew.-% bezogen auf die Mittel als ganzes. Weiterhin kann das Beizmittel, vor allem in flüssiger Form noch Emulgatoren und Lösemittel enthalten, beispielsweise der in der DE-A 33 12 840 bzw. DE-A 33 22 840 beschriebenen Art. Im allgemeinen liegt der Anteil an Emulgatoren im Bereich von 0,01 bis 5 Gew.-%, vorzugsweise bei 0,1 bis 0,5 Gew.-% bezogen auf das Hautgewicht.

Besonders bevorzugt ist die Verwendung nicht-ionischer Emulgatoren gegebenenfalls in Kombination mit anionischen Emulgatoren. Genannt seien vor allem die Ethoxylate der C11-C13-Fettalkoholate mit 6 bis 25 Mol Ethylenoxid, vorzugsweise mit 6 - 9 Mol Ethylenoxid.

Als Lösungsmittel, die im allgemeinen in Mengen von 0,1 bis 5 Gew.-% bezogen auf das Gewicht der Entkalkungs-Flotte eingesetzt werden, kommen an sich übliche, beispielsweise aus der Gruppe der Mineralöle bzw. Mineralölfractionen, der niederen Alkohole und Glykole und deren veretherte Derivate infrage. Beispielsweise seien Mineralöle mit zwischen 10 und 60, insbesondere 15 und 30 Gew.-% Aromatengehalt genannt.

Ausführung der Erfindung

Die Ausführung der Erfindung kann sich eng an die bekannten Vorgehensweisen bei der CO₂-Entkalkung anschließen.

Vorzugsweise arbeitet man dabei im Gerbfass oder in der Gerbmachine wobei eine Rezirkulations- bzw. Umpumpeinrichtung für die Flotte vorteilhaft ist. Die angewendeten Flotten liegen im allgemeinen im Bereich bis 150 % bezogen auf das Blößengewicht. Zur Entkalkung wird CO₂-Gas unmittelbar in das Umpumpsystem eingespeist. Vorteilhafterweise liegt die Dosierung bei 7 - 11 l/min. Im allgemeinen dosiert man gleich zu Beginn das Beizmittel, beispielsweise das Produkt A gemäß den Ausführungsbeispielen zu. In der Regel fällt dann der pH-Wert der Flotte im ersten Zeitabschnitt, etwa nach ca. 20 Minuten von nahe 12 auf einen Wert um 8., nach einem weiteren Zeitabschnitt von etwa 10 Minuten auf einen Wert von ca. 6,5 - 7. Im allgemeinen sind die Blößen mit einer Stärke 1,8 - 2,5 mm nach einer Entkalkungsdauer von ca. 120 Minuten völlig durchentkalkt.

Vorteilhafte Wirkungen

Die Häute sind im Hinblick auf Grundreinheit, Glätte und Hautaufschluß besser zu bewerten als bei Anwendung eines rein pankreatischen Beizmittels gleicher Aktivität (mit Aktivitätsoptimum bei pH 8) bei sonst identischer Durchführung. Andererseits fällt positiv ins Gewicht, daß das erfindungsgemäße Verfahren keine grundsätzliche Umstellung der CO₂-Entkalkungs- und Beizverfahrensweise erfordert.

Die nachfolgenden Beispiele dienen zur Erläuterung der Erfindung.

BEISPIELE

Produkt A

Enzympräparationen bestehend aus:

40	10 Gew.-%	einer alkalischen Bakterienprotease aus <i>Bacillus licheniformis</i> mit einer Aktivität von 250 U _{HB} bei pH 10
	50 Gew.-%	eines Pankreasenzym mit einer Aktivität von 250 U _{HB} bei pH 8
45	40 Gew.-%	einer sauren Pilzprotease aus <i>Aspergillus niger</i> mit einer Aktivität von 250 U _{HB} bei pH 6,5
50		Stellsalz der Einzelenzympräparate ist Natriumsulfat. Die Gesamtprotease-aktivität der Mischung bei pH 8 beträgt 180 U _{HB} .

Produkt B

Herstellung einer absetzstabilen flüssigen Enzympräparation:

- a) 10 Gew.-% einer flüssigen wäßrigen alkalischen Bakterienproteaseformulierung aus *Bacillus licheniformis* mit einer Aktivität von 250 U_{HB} bei pH 10 (Präparation 1 siehe unten) und
- b) 50 Gew.-% einer flüssigen, wäßrigen Pankreasenzympräparation mit einer Aktivität von 250 U_{HB} bei pH 8 (Präparation 2) und
- c) 40 Gew.-% einer flüssigen, wäßrigen Pilzproteaseformulierung aus *Aspergillus niger* mit einer Aktivität von 250 U_{HB} bei pH 6,5 (Präparation 3) werden homogen vermischt. Die Präparation hat eine Gesamtaktivität bei pH 8 von 180 U_{HB} und wird durch einfaches Mischen der Einzelpräparationen a) bis c) hergestellt.

Präparation 1

Herstellung der flüssigen Einzelpräparationen

100 kg einer wäßrigen klaren Lösung einer alkalischen Bakterienprotease aus *Bacillus licheniformis* mit einer Aktivität von 10 000 U_{HB} bei pH 10 wird bei 16 Grad C mit 50 kg Ammoniumsulfat versetzt, wobei die Enzyme gefällt werden. Die Enzymsuspension besitzt eine Aktivität von 9 800 U_{HB} bei pH 10 und eine Dichte von 1,22 bis 1,23 g/cm³. Diese Enzymsuspension wird anschließend mit soviel einer verdickten isotonischen Ammoniumsulfat-Lösung (480 mPa s) unter Rühren verdünnt damit eine Aktivität von 250 U_{HB} bei pH 10 erreicht wird.

Präparation 2

100 kg Preßsaft wie er nach dem Zermahlen, Aktivieren und Extrahieren von Pankreasdrüsen anfällt wird mit 50 kg Ammoniumsulfat versetzt und die Pankreasenzyme ausgefällt. Die Pankreasenzym suspension besitzt eine Aktivität von 8 400 U_{HB} bei pH 8 und eine Dichte von ca. 1,22 bis 1,23 g/cm³. Diese Suspension wird anschließend mit soviel einer verdickten isotonischen Ammoniumsulfatlösung (480 mPa s) verdünnt, damit eine Aktivität von 250 U_{HB} bei pH 8 erreicht wird.

Präparation 3

100 kg einer wäßrigen klaren Lösung einer Pilzprotease aus *Aspergillus niger* werden bei 16 Grad C mit 50 kg Ammoniumsulfat versetzt, wobei die Enzyme ausgefällt werden. Die Enzymsuspension mit einer Aktivität von 8 800 U_{HB} bei pH 6,5 und einer Dichte von 1,22 bis 1,23 g/cm³ wird mit soviel verdickter isotonischer Ammoniumsulfatlösung verdünnt, daß eine Aktivität von 250 U_{HB} bei pH 6,5 erreicht wird.

Herstellung der verdickten isotonischen Ammoniumsulfatlösung

- 5 In einem Rührkessel werden 60,7 kg Wasser vorgelegt und mit einem Zahnscheibenrührer (Umfangsgeschwindigkeit 2-3 m/sec.) werden 1 kg eines Verdickungsmittels auf Xanthanbasis eingearbeitet (z.B. K1A96, Fa. Kelco). Ist die Viskosität der Lösung auf > 1 000 mPa s angestiegen, werden 10 38,3 kg Ammoniumsulfat zugegeben. Man rührt so lange bis das Ammoniumsulfat gelöst ist. Die Viskosität fällt dabei auf 480 mPa s ab.

Produkt C

15

Herstellung einer flüssigen, nichtwäßrigen absetzstabilen Enzympräparation.

- 20 a) 10 Gew.-% einer flüssigen nichtwäßrigen alkalischen Bakterienprotease aus *Bacillus licheniformis* mit einer Aktivität von 250 U_{HB} bei pH 10 und
- b) 50 Gew.-% einer flüssigen nichtwäßrigen Pankreasenzympräparation mit einer Aktivität von 250 U_{HB} bei pH 8 und
- 25 c) 40 Gew.-% einer flüssigen, wäßrigen Pilzproteasepräparation aus *Aspergillus niger* mit einer Aktivität von 250 U_{HB} bei pH 6,5
- 30 werden homogen vermischt. Die Gesamtformulierung hat eine Aktivität von 180 U_{HB} bei pH 8.

Herstellung der Einzelenzympräparationen

- 35 500 g C₁₃-Fettalkoholethoxylat mit 6-7 Mol Ethylenoxideinheiten, 150,5 g Petroleum (Kp. 110 Grad C) und 307 g Mineralöl (Kp. > 250 Grad C) werden nach Zusatz von 30 g eines organisch modifizierten Bentonits (z.B. Bentone 27, Fa. Kronos Titan, Leverkusen) 35 Minuten lang in einem Ultra-Turrax Rührgerät mit 16 m/sec Umfangsgeschwindigkeit dispergiert. Die Dispersion läßt man 40 24 Stunden stehen wonach eine Viskosität von 350 mPa s erreicht ist. Unter gleichen Dispergierbedingungen werden nun 12,5 g pulverförmiges Proteaseenzym zugegeben und weitere 5 Minuten dispergiert. Die Einzelpräparation hat bei Verwendung einer pulverförmigen

- 45 a) alkalischen Bakterienprotease aus *Bacillus licheniformis* mit der Aktivität von 20 000 U_{HB} bei pH 10 eine Endaktivität von 250 U_{HB} bei pH 10
- 50 b) Pankreasprotease mit der Aktivität von 20 000 U_{HB} bei pH 8 eine Endaktivität von 250 U_{HB} bei pH 8
- 55 c) Pilzprotease mit der Aktivität von 20 000 U_{HB} bei pH 6,5 eine Endaktivität von 250 U_{HB} bei pH 6,5.

Beispiel 1

Entkalkung und Beize von geäscherten Großviehhäuten (Gewichtsklasse 30 - 39 kg, Spaltstärke 2,2 mm).

In ein Gerbfass mit Rezirkulations- bzw. Um-
pumpeinheit für die Flotte, werden 1 000 kg geä-
scherte Rindshaut mit 800 kg Wasser eingebracht.
Zur Entkalkung wird CO₂-Gas direkt in das Um-
pumpsystem eingespeist. Die Dosierung an CO₂
beträgt 8 bis 9 l/min. Gleich zu Beginn wird 0,5 %
(bez. auf Blößengewicht) Beizmittel (Produkt A) zu-
dosiert. Der Anfangs-pH-Wert in der Flotte fällt
während den ersten 10 Minuten von pH 11,8 auf
pH 8 - 8,2, nach weiteren 10 Minuten auf pH 6,5 - 7.
Nach insgesamt 120 Minuten Entkalkungszeit sind
die Blößen im Querschnitt völlig durchentkalkt. Die
Häute sind bzgl. Grundreinheit, Glätte und Hautauf-
schluß besser zu bewerten, als bei identischen
Anwendungen eines reinen Pankreasbeizmittels
gleicher Aktivität mit Aktivitätsoptimum bei pH 8.

Beispiel 2

Analog Beispiel 1 wurde Produkt B mit gleicher
Dosierung und Anwendung eingesetzt. Da Produkt
B flüssig ist, kann dieses automatisch über eine
Dosiervorrichtung zudosiert werden. In diesem Fall
ist ein zusätzliches Öffnen des Gerbfasses nicht
erforderlich. Dadurch wird eine Exposition mit gifti-
gem Schwefelwasserstoff vermieden, welcher bei
der CO₂-Entkalkung in verstärktem Maße freiges-
etzt wird.

Beispiel 3

Analog Beispiel 2 wird Produkt C in gleicher
Anwendung und Dosierung eingesetzt. Produkt C
enthält Emulgatoren wodurch die Grundreinheit der
Häute zusätzlich verbessert wird.

Patentansprüche

1. Enzymatische Beizpräparate für die
Kohlensäure-Entkalkung unter Verwendung
von Proteasen,

dadurch gekennzeichnet,

daß die Beizpräparate als Proteasen P

A) alkalische Bakterienprotease mit einem
pH-Optimum zwischen 9 und 11 in Anteilen
von 10 - 20 Gew.-% bezogen auf die Ge-
samtheit der Proteasen P

B) Pankreasprotease mit einem pH-Opti-
mum zwischen 7 und 9, in Anteilen von 40 -
70 Gew.-% bezogen auf die Gesamtheit der
Proteasen P und

C) Pilzprotease oder Bakterienprotease mit

pH-Optimum im pH-Bereich 5 bis 7 in An-
teilen von 20 bis 40 Gew.-% bezogen auf
die Gesamtheit der Proteasen P,
enthalten, mit der Maßgabe, daß die proteolyti-
sche Aktivität der

A') alkalischen Bakterienproteasen bei pH
10, der

B') pankreatischen Enzyme bei pH 8 und

C') der sauren Pilz- oder Bakterienprotease
bei pH 6,5 gleich stark eingestellt ist.

2. Enzymatische Beizpräparate gemäß Anspruch
1, dadurch gekennzeichnet, daß sie neben den
Proteasen noch an sich bekannte Hilfsmittel
ausgewählt aus der Gruppe der Enzymstabili-
satoren, Stellmittel, enthalten.
3. Enzymatische Beizpräparate gemäß den An-
sprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet,
daß sie an sich bekannte Lösemittel enthalten.
4. Flüssige oder feste enzymatische Beizpräpara-
te gemäß den Ansprüchen 1 - 3, dadurch
gekennzeichnet, daß sie bereits zu Beginn der
CO₂-Entkalkung oder während dieser einge-
setzt werden.